

19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

12 Off nl gungsschrift
11 DE 32 29 179 A 1

51 Int. Cl. 3:
A 61 K 31/23
A 61 K 31/14

21 Akt nzeichen: P 32 29 179.5
22 Anmeldetag: 5. 8. 82
43 Offenlegungstag: 9. 2. 84

810

DE 32 29 179 A 1

71 Anmelder:

A. Nattermann & Cie GmbH, 5000 Köln, DE

72 Erfinder:

Röntgen-Odenthal, Renate, 7800 Freiburg, DE; Dürr,
Manfred, Dipl.-Chem. Dr., 5024 Pulheim, DE;
Harhausen, Ekkehard, Dr., 5000 Köln, DE

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

64 Lungensurfactant

Lungensurfactant zur Behandlung von Atemnotsyndromen,
enthaltend Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) und Dipal-
mitoylphosphatidylglycerol (DPPG) im Verhältnis 9 : 1 bis 8 : 2
und einen Zucker in Form eines redispersierbaren Pulvers,
welches erhalten wurde durch Lösen der Phospholipide in
Eisessig, Einbringen des Zuckers und anschließendes
Gefriertrocknen der Mischung. Zur Verwendung wird das
Lyophilisat in einer geeigneten Pufferlösung redispersiert.
(32 29 179)

DE 32 29 179 A 1

Patentanwälte

Dr. Michael Hann

Dr. H.-G. Sternagel

Marburger Str. 38

6300 Gießen

(1502) St/He

Nattermann & Cie., GmbH

Nattermannallee 1, 5000 Köln 30

Lungensurfactant

Patentansprüche:

1. Lungensurfactant aus einer Mischung von überwiegend
Dipalmitoylphosphatidylcholin und Dipalmitoylphos-
5 phatidylglycerol und üblichen Hilfsstoffen,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß es ein redispersierbares Pulver ist mit einem
Gehalt an
40 - 45 Gew.% Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC),
10 5 - 10 Gew.% Dipalmitoylphosphatidylglycerol (DPPG) und
50 Gew.% eines Zuckers.
 2. Lungensurfactant nach Anspruch 1,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß es als Zucker Glucose, Fructose und/oder Lactose
15 enthält.
 3. Verfahren zur Herstellung eines Lungensurfactants
aus einer Mischung von überwiegend Dipalmitoylphos-
phatidylcholin und Dipalmitoylphosphatidylglycerol
und üblichen Hilfsstoffen,
-

5

10

15

6. Verwendung des in einer Pufferlösung redispersierten Lungensurfactants nach den Ansprüchen 1 bis 5 zum Behandeln von Atemnotsyndromen.

Gegenstand der Erfindung ist ein neues Lungensurfactant aus einer Mischung von Dipalmitoylphosphatidylcholin, Dipalmitoylphosphatidylglycerol und einem Zucker in Form eines Lyophilisats und seine Verwendung nach Redispergieren in einer Pufferlösung zur Behandlung von Atemnotsyndromen.

An Atemnotsyndromen sterben mehr Neugeborene als an jeder anderen Krankheit. Die Ursache ist eine zu hohe Oberflächenspannung in den Alveolen, die die Lungen daran hindert, selbständig zu atmen. Sie beruht auf einem Mangel an Surfactant-Faktoren. Diese Substanz entsteht normalerweise kurz vor der Geburt. Die für die Atmung benötigten oberflächenaktiven Substanzen sind Phospholipide, die in den Alveolären Zellen des Typs II im Rahmen des Phospholipid-Stoffwechsels gebildet werden. Sie sind in ungenügender Menge vorhanden, wenn das Kind zu früh geboren oder durch Kaiserschnitt entbunden wird, bevor die Wehen eingesetzt haben oder wenn die Mutter Diabetikerin ist.

In Mitteleuropa liegt die Rate des Atemnotsyndroms bei Frühgeborenen zwischen 15 und 20%. Zur Prophylaxe und Therapie des Atemnotsyndroms hat man versucht, die Phospholipid-Synthese durch Glykocorticoide oder Bromhexin-metaboliten zu stimulieren. Die Therapie mit Glykocorticoiden ist mit einem hohen Risiko belastet und wird deshalb sehr zögernd angewendet. Die Therapie mit Bromhexin-metaboliten wurden aus verschiedenen Gründen wieder aufgegeben.

In US-PS 3 594 476 ist beschrieben, Lungensurfactants in Aerosolform herzustellen, indem man Dipalmitoylphosphatidylcholin in einer wäßrigen Natriumchloridlösung dispergiert. Die erhaltenen Dispersionen sind jedoch nicht ausreichend stabil und haben eine ungenügende Oberflächenaktivität, so daß sie nicht zur therapeutischen Anwendung gelangen.

Als brauchbar haben sich Liposom-Suspensionen aus Dipalmitoylphosphatidylcholin und Dipalmitoylphosphatidylglycerol im Verhältnis 9:1 erwiesen (M. Obladen, und andere, Eur. J. Pediat. Vol. 131, Nr. 4, 219-228 (1979)). Diese Liposome wurden hergestellt durch Suspendieren bzw. Dispergieren von Gemischen aus Dipalmitoylphosphatidylcholin und Dipalmitoylphosphatidylglycerol in wässriger Lösung. Die so hergestellten Suspensionen zeigen jedoch keine ausreichende Stabilität und weisen eine ungleichmäßige Oberflächenaktivität auf.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, ein Lungensurfactantsystem zu schaffen, das aus Dipalmitoylphosphatidylcholin und Dipalmitoylphosphatidylglycerol besteht und eine gleichbleibende Oberflächenaktivität besitzt sowie für längere Zeiträume lagerstabil ist.

Völlig überraschend wurde gefunden, daß man brauchbare stabile Lungensurfactantsysteme mit gleichbleibender Oberflächenaktivität herstellen kann, indem man Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) mit Dipalmitoylphosphatidylglycerol (DPPG) im Verhältnis 9:1 bis 8:2 in Eisessig löst, die erhaltene Lösung mit einem Zucker versetzt und anschließend gefriertrocknet.

Das auf diese Weise erhaltene Lungensurfactant aus einer Mischung von überwiegend Dipalmitoylphosphatidylcholin und Dipalmitoylphosphatidylglycerol und üblichen Hilfsstoffen ist dadurch gekennzeichnet, daß es ein redispersierbares Pulver ist mit einem Gehalt von

40 - 45 Gew.% Dipalmitoylphosphatidylcholin,
5 - 10 Gew.% Dipalmitoylphosphatidylglycerol und
50 Gew.% eines Zuckers.

Bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung und die Verwendung des Lungensurfactants sind in den Unteransprüchen beschrieben.

Man löst 8-9 Gewichtsteile Dipalmitoylphosphatidylcholin und 2-1 Gewichtsteile Dipalmitoylphosphatidylglycerol (DPPG) jeweils in 10-30 Gewichtsteilen Eisessig bei 20 - 40°C, vereinigt die erhaltenen Einzellösungen unter

Rühren und bringt dann den Zucker ein und zwar 1 Teil Zucker auf 1 Teil DPPC/DPPG-Gemisch.

Als geeignete Zucker können Glucose, Fructose oder Lactose zugegeben werden. Die erhaltene Lösung wird gegebenenfalls steril filtriert und anschließend nach üblichen Methoden gefriergetrocknet. Die erhaltenen Lyophilisate zeigen auch bei längerer Lagerung (1 Jahr) noch ausgezeichnete Stabilitäten. Das Lyophilisat wird vor Anwendung in einer Pufferlösung redispergiert. Die erhaltene
5
10
homogene Dispersion kann intrapulmonal oder intratracheal verabreicht werden. Geeignete Pufferlösungen sind die dem Fachmann geläufigen Pufferlösungen, insbesondere Phosphatpuffer.

Beispiel 1

15 45 mg Dipalmitoylphosphatidylcholin und 5 mg Dipalmitoylphosphatidylglycerol werden jeweils in 1 ml Eisessig (98%) unter Erwärmen gelöst. Die klaren, warmen Einzellösungen werden unter Rühren zusammengegeben und 50 mg Glucose zugesetzt. Die Lösung wird in ein 10 ml Glasfläschchen einge-
20
getragen, lyophilisiert und die Glasflasche anschließend verschlossen.

Vor der Anwendung wird das Lyophilisat jeweils in 1,00 ml Trispuffer 0,35% (Trispuffer 0,6%, H₂O, Phosphatpuffer) redispergiert.

Messung der Oberflächenaktivität:

Die Messungen wurden mit einer modifizierten Wilhelmy-Waage durchgeführt.

Das aktive Material wurde als Dispersion auf die Oberfläche einer physiologischen Kochsalzlösung in einer Menge von 2,55 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ Oberfläche bei einer Temperatur von 37°C gegeben.

Als Kriterium zur Beurteilung der Oberflächenaktivität wurde neben dem Stabilitätsindex (SI) auch die Hysteresiskurve miteinbezogen.

Es wurde ein Maximaloberflächenspannungsbereich von 61-68 dyn/cm und nach 50-75% des komprimierbaren Oberflächenbereichs ein Mindestoberflächenspannungsbereich von 0-1 dyn/cm erhalten. Der Stabilitätsindex betrug 1,95 - 2,00.

15 Beispiel 2

Analog Beispiel 1 wurde eine Mischung aus 45 mg Dipalmitoylphosphatidylcholin und 5 mg Dipalmitoylphosphatidylglycerol eingesetzt.

Beispiel 3

20 Analog Beispiel 1 wurde anstelle von Glucose 50 mg Lactose eingesetzt.

Beispiel 4

Analog Beispiel 2 wurden anstelle von Glucose 50 mg Lactose eingesetzt.